

①Int.Cl. ②日本分類
O 07 c 16 B 652

日本国特許庁

③特許出願公告

昭46-10844

⑩特許公報

④公告 昭和46年(1971)3月19日

発明の数 1

(全6頁)

1

2

④光学活性グルタミン酸 β 型を晶析させる方法

①特 願 昭44-34076

②出 願 昭44(1969)5月6日

③発 明 者 小笠原晋久

名古屋市港区船見町1の1東亜合
成化学工業株式会社研究所内同 立道秀麿
同所④出 願 人 東亜合成化学工業株式会社
東京都港区西新橋1の14の1

発明の詳細な説明

本発明はDL-グルタミン酸 α 型を液底体とする水溶液から光学活性グルタミン酸 β 型を撰択的に晶析させる方法に関するものである。

本発明を更に詳しく言えば、DL-グルタミン酸 α 型を液底体とする溶液中に、少量の光学活性アミノ酸のエステルを溶存させることによつて、使用した光学活性アミノ酸エステルと同種の対称性を有するグルタミン酸 α 型の転移を抑制しながら、光学活性アミノ酸エステルと異種の対称性を有するグルタミン酸 α 型を撰択的に β 型に転移させ、以つてDL-グルタミン酸 α 型の分割を効率良く行う方法に関する。

従来、光学活性グルタミン酸結晶には、その形状が粒状の斜方晶系 α 型の結晶〔格子定数： $a=7.06\text{\AA}$ ， $b=10.3\text{\AA}$ ， $c=8.75\text{\AA}$ （J.D.Bernal, Z. Kryst., 78; 363 (1931)）以下単に α 型L-或はD-GAと略称する〕と、細かい柱状又は鱗片状の斜方晶系 β 型の結晶〔格子定数： $a=5.17\text{\AA}$ ， $b=17.34\text{\AA}$ ， $c=6.95\text{\AA}$ （S.Hirskawa, Acta. Cryst. 8, 637 (1955)）以下単に β 型D-或はL-GAと略称する〕の2種が存在し、一方光学的に不活性なラセミグルタミン酸結晶としてはその形状が柱状又は鱗片状のA型の結晶（以下単にA型DL-GAと略称する）、

無定型粉末状のB型の結晶（以下単にB型DL-GAと略称する）、針状又は柱状の1水和物の結晶（以下単にDL-GA \cdot H₂Oと略称する）及び粒状の α 型の結晶（以下単に α 型DL-GAと略称する）の4種が知られている。

そしてラセミ体結晶と光学活性体結晶の関係としては、 α 型DL-GAは α 型D-GAと α 型L-GAのラセミ混合物であり〔渡辺テイ子、野依源太郎、日本化学雑誌88, 1267(1967)〕、A型DL-GAは β 型D-GAと β 型L-GAのラセミ混合物であり〔竹西忠男、日本化学雑誌82, 805(1961)〕、B型DL-GAは α 型、 β 型とは全く異つたラセミ化合物結晶であり〔明石武和、日本化学雑誌83, 528(1962)〕また、DL-GA \cdot H₂O結晶も α 型、 β 型とは全く異つたラセミ化合物結晶である〔渡辺テイ子、野依源太郎、日本化学雑誌70, 2164(1967)〕ことが知られている。

このうち α 型DL-GAは準安定型結晶であつて、40℃以上の高温においてグルタミン酸水溶液が共存すると、液相を通して容易にA型結晶に転移する傾向を持つ〔渡辺テイ子、野依源太郎、日本化学雑誌88, 1267(1967)〕。

一方本発明者らは、先に α 型DL-GAを液底体とするグルタミン酸溶液中に、グルタミン酸以外の光学活性アミノ酸を少量添加して加熱すると添加したアミノ酸と同種の対称性を有する α 型グルタミン酸の β 型への転移が抑制され、そのために添加したアミノ酸と異種の対称性を有する α 型グルタミン酸のみが撰択的に β 型に転移する現象を発見し、これをたくみに利用して、 α 型DL-GAを効率良く分割する方法を提供した（特願43-42901）。このように α 型DL-GAのうちの一方の対掌体のみを β 型に転移させる作用を不斉転移作用と称する。このような α 型DL-GAの不斉転移作用を有する添加剤としては、これまでグルタミン酸を除く光学活性アミノ酸のみが認識されていたが、本発明者らは、光学活性

(2)

特公 昭46-10844

3

グルタミン酸を含む光学活性アミノ酸のエステルが、このような不斉転移作用を示すことを新しく発見して本発明を完成した。

本発明の第一の利点は、ラセミグルタミン酸の光学分割操作を非常に効率良く行なうことが出来、5 コストが軽減されることにある。即ち、従来の接種法による分割方法によつては到底果し得なかつたような高濃度のD L-グルタミン酸水溶液を非常に高い分割率でしかも短時間で処理できるため、装置の容量が小さくなりしかも従来の接種法による分割法の如く過飽和度調節のために毎回母液を加熱冷却する操作が不要であるので、用役費が軽減され工程のコントロールも容易である。

第二の利点は、光学活性アミノ酸の原料として蛋白質加水分解液等を使用することも可能な点にある。即ちアミノ酸をエステル化することによつて、該加水分解液中に共存する多量の不純物からアミノ酸成分を容易に分離出来、得られたアミノ酸エステル類は直ちに添加剤として使用出来る。

第三の利点は、光学活性グルタミン酸エステルも有効であるため、添加剤原料の入手が容易かつ安価であり、また使用したエステル類は必要ならば加水分解することによつてもとのグルタミン酸に再生出来るので、工業的に実施する場合にはきわめて好都合である点にある。

第四の利点としては、天然アミノ酸はL-体が大部分であつて、D-体アミノ酸は高価で入手困難であるが、グルタミン酸のように化学的合成法が確立されているものについてはD-体も容易に入手出来るため、後述のように目的に応じて添加剤をL-体とD-体とに使い分け得ることがあげられる。

更に第五の利点は、本方法を実施した結果としてD-GAとL-GAに分離可能な結晶混合物を同一槽で同時に得ることが出来る点にある。

本発明の方法において使用されるアミノ酸エステルは、光学活性アミノ酸のエステルであれば良く、例えばグルタミン酸を始めとしてアラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、ゼリン、スレオニン、アスパラギン酸、グルタミン、リジン、40 アルギニン、システイン、シスチン、メチオニン、フェニルアラニン、チロシン、トリプトファン、ヒスチジン、プロリン、ヒドロキシプロリン、ヒドロキシリジン、 α -アミノ酪酸、 α -アミノイソ酪酸、システイン酸、ホモシステイン、ノル

4

ロイシン、ノルバリン、オルニチン等の如き光学活性アミノ酸のエステルがあり、そのアミノ酸の種類によらない。

またグルタミン酸、アスパラギン酸、シスチン等のような二塩基性アミノ酸では、そのモノエステル及びジエステルの両者とも有効である。

エステルの代表例はアルキルエステルで、アルキル基の種類はメチル、エチル、n-プロピル、i-プロピル、n-ブチル、i-ブチル、2-エチルヘキシル基を始めとしてラセミグルタミン酸水溶液中に全く溶解性を示さなくなるまでのエステルであれば使用出来る。例えばグルタミン酸のエステルであればラウリルエステル(炭素数12)までは使用できる。

またアミノ酸のエステルは、通常エステル化触媒として使用した塩酸、硫酸、p-トルエンスルホン酸等の強酸の塩として得られるが、塩の形でそのまま添加してもまたアルカリで中和して遊離エステルの形で添加しても、いずれもその効力はほとんど変わらない。

これらエステルは単独または二種以上の混合物として α 型D L-GAを液底体とするラセミグルタミン酸水溶液中に添加され、その添加量は遊離グルタミン酸に換算して溶液に対して0.1%(重量%)、以下同じ)以上添加すれば効果を示すが、特に0.5%以上が適当である。0.1%以下の添加量では不斉転移作用は弱くなる。

本発明方法においては、使用した光学活性アミノ酸エステルと同種の対称性を有する α 型グルタミン酸の β 型への転移が抑制されるために、添加した光学活性アミノ酸と異種の対称性を有する α 型グルタミン酸のみが選択的に微細な β 型結晶に転移する。即ち、L-体アミノ酸エステルを添加剤として使用した場合には α 型D-GAのみが微細な β 型D-GAに転移し、 α 型L-GAは変化することなくもとの大きさの粒状結晶として残り、逆にD-体アミノ酸エステルを添加した場合には α 型L-GAのみが微細な β 型L-GAに転移し、 α 型D-GAはもとの大きさの粒状結晶として残る。このように α 型D L-GAの中の一方向の対称体のみが β 型に転移する結果、転移の進行と共に光学純度は次第に上昇し、転移が完全に終了した後では液底体は光学活性 α 型グルタミン酸結晶と、それと逆の旋光性を有する光学活性 β 型グルタミン酸結晶の混合物となる。

この α 型結晶の β 型への転移は最初は誘導期間があつて、厳密な意味での再現性はやや欠けるが一度転移が始まると加速度的に進行し、60～70℃においては転移を始めてから1～2時間で完全に転移する。この転移開始までの誘導期間をなくして再現性を与える為には少量の β 型結晶を種晶として添加することが好ましい。この際添加するアミノ酸エステルの光学活性の種類によつて転移するグルタミン酸の種類が定まるので、L-体アミノ酸エステルを添加した場合には種晶として β 型D-GAを使用しなければならない。種晶の使用量は溶液に対して1～2%の添加で十分である。

このようにして十分転移が進行した後では、液底体はL-体アミノ酸エステルを使用した場合には粒状の α 型L-GAと微細な柱状又は針状の β 型D-GAの混合物となつて長時間平衡状態が保たれるので、この間に結晶を分離して篩分けするか、サイクロンのような沈降性の差を利用した通常の湿式あるいは乾式分級方法によつて光学活性 α 型結晶と光学活性 β 型結晶とに簡単に分けることが出来る。

晶析時の温度は望ましくは40℃以上の高温側で実施されるが、特に60～80℃の温度範囲が適当である。60℃以下の温度では α 型グルタミン酸の β 型への転移が遅くなり、また90℃以上の高温では添加剤の不斉転移作用が弱くなり得られた結晶の光学純度が低下する傾向がある。

ラセミグルタミン酸水溶液のpHとしては、ラセミグルタミン酸が液底体として存在し得る範囲すなわちpH 1～5の範囲で実施可能であるが、特にグルタミン酸の等電点であるpH 3.2よりも酸性側の方が光学活性アミノ酸エステルの不斉転移作用が強い。通常pH 1.5～2.5附近が最も適当である。pH調節剤は塩酸、硫酸、水酸化ナトリウム、アンモニア水等通常の強酸や強アルカリが使用出来る。

α 型DL-GA結晶の初濃度の上限值としては、攪拌操作によつて結晶が大体均一に遊離する濃度まで実施可能である。通常、 α 型DL-GAに対して飽和な水溶液の100重量部に対して、 α 型DL-GA結晶60重量部以下好ましくは40～50重量部程度が適当であるが、これ以下の濃度で実施してもさしつかえない。

次に実施例によつて本発明の内容を更に詳しく

説明する。

尚、得られた結晶は、150メッシュの篩を用いて150メッシュより粒度大の部分と150メッシュより粒度小の部分とに篩分けし、それぞれ旋光角を測定することによつて結晶の光学純度を求めた。150メッシュより粒度大の部分の結晶型はほとんど完全な α 型結晶であり、150メッシュより粒度小の部分の結晶型は大部分は柱状の β 型結晶であつたが、粒子の小さい α 型結晶も混つていた。

実施例 1

容量300ccのジャケット付晶析器内に、下記の各種アミノ酸エステルの1種0.0136モル（グルタミン酸換算1%）を含みpH 2、温度70℃において α 型DL-GAに対して飽和に近いラセミグルタミン酸水溶液の200gと、80メッシュより粒度の大きい α 型DL-GAの40gを入れて、温度70℃において5時間攪拌した後結晶を濾過した。結晶は少量の水で洗浄後乾燥して、150メッシュより粒度の大きい部分と、粒度の小さい部分とに篩分けして、各々の結晶の光学純度を測定したところ、次の如くであつた。

アミノ酸エステルの種類	光学純度 (%)	
	150メッシュより粒度大の結晶 (%)	150メッシュより粒度小の結晶 (%)
L-アラニンメチルエステルパラトルエンスルホン酸塩	L-GA 94.9	D-GA 70.7
L-ロイシンメチルエステルパラトルエンスルホン酸塩	L-GA 98.8	D-GA 83.7
L-チロシンメチルエステルパラトルエンスルホン酸塩	L-GA 96.6	D-GA 75.2
L-ゼリンメチルエステルパラトルエンスルホン酸塩	L-GA 98.2	D-GA 77.7
L-メチオニンメチルエステルパラトルエンスルホン酸塩	L-GA 95.2	D-GA 74.0

(4)

特公 昭46-10844

7

アミノ酸エステル の種類	光学純度 (%)	
	150メツシユより粒度大の結晶 (%)	150メツシユより粒度小の結晶 (%)
L-チロシンメチルエステルパラトレンスルホン酸塩	L-GA 94.6	D-GA 73.8
L-リジンメチルエステルジパラトレンスルホン酸塩	L-GA 94.1	D-GA 71.9
L-フェニルアラニンメチルエステルパラトレンスルホン酸塩	L-GA 97.3	D-GA 80.8

実施例 2

容量300ccのジャケット付晶析器内に、下記各種エステルの1種を0.0136モル（遊離グルタミン酸換算1%）含みpH 2、温度65℃にお

いてα型DL-GAに対して飽和に近いDL-グルタミン酸水溶液200g（H₂SO₄でpH調整）と、80メツシユより粒度の大きいα型DL-GAの40gを入れて液温を65℃に保ちながら5時間攪拌した。

その後結晶を濾過し、少量の水で水洗して乾燥後篩分けして、150メツシユより粒度大の部分の結晶と150メツシユより粒度小の部分の結晶の光学純度を測定したところ次の如くであつた。

エステル種類	光学純度 (%)	
	150メツシユより粒度大の結晶	150メツシユより粒度小の結晶
L-グルタミン酸γ-メチルエステル塩酸塩	L-GA 94.8	D-GA 83.2
L-グルタミン酸ジメチルエステル塩酸塩	L-GA 97.2	D-GA 86.7
L-グルタミン酸ジメチルエステルパラトレンスルホン酸塩	L-GA 96.1	D-GA 81.4

8

L-グルタミン酸ジエチルエステルパラトレンスルホン酸塩	L-GA 92.5	D-GA 79.6
-----------------------------	-----------	-----------

5

実施例 3

L-グルタミン酸ジメチルエステル塩酸塩を炭酸カリウムで中和して得た粗エステルの0.0136モルを用いて、実施例2と同じ条件で試験した結果、150メツシユより粒度大の部分の結晶の光学純度はL-GAとして95.8%、150メツシユより粒度小の部分の結晶の光学純度はD-GAとして83.1%であつた。

実施例 4

15 容量300ccのジャケット付晶析器内に、下記各種エステルの1種を0.0136モル含み、pH 2、温度70℃においてα型DL-GAに対して飽和に近いDL-グルタミン酸水溶液の200g（H₂SO₄でpH調整）と、80メツシユより粒度の大きいα型DL-GAの40gを入れて液温を70℃に保ちながら3時間30分攪拌した。

その後結晶を濾過し、少量の水（但しアミノ酸エステルとして2-エチルヘキシルエステル及びラウリルエステルを用いた場合はメタノールを使

30

エステルの種類	光学純度 (%)	
	150メツシユより粒度大の結晶	150メツシユより粒度小の結晶
D-グルタミン酸ジメチルエステルパラトレンスルホン酸塩	D-GA 95.5	L-GA 84.8
L-グルタミン酸ジノルマルブロピルエステルパラトレンスルホン酸塩	L-GA 96.7	D-GA 83.7
L-グルタミン酸ジノルマルブチルエステルパラトレンスルホン酸塩	L-GA 94.4	D-GA 86.8

45

(5)

特公 昭46-10844

9

D-グルタミン酸ジノルマルブチルエステルパラトレンスルホン酸塩	D-GA 93.1	L-GA 80.3
L-グルタミン酸ジイソブチルエステルパラトレンスルホン酸塩	L-GA 94.3	D-GA 83.8
L-グルタミン酸ジ-2-エチルヘキシルエステルパラトレンスルホン酸塩	L-GA 92.7	D-GA 73.7
L-グルタミン酸ジラウリルエステルパラトレンスルホン酸塩	L-GA 93.6	D-GA 69.3

実施例 5

容量300 ccのジャケット付晶析器内に、L-グルタミン酸γ-メチルエステル塩酸塩0.0136 20
モルを含み、下記pHで濃度70℃においてα型DL-GAに対して飽和に近いDL-グルタミン酸水溶液(H₂SO₄又はNaOHでpH調整)の200gと、80メッシュより粒度の大きいα型DL-GAの40gを加えて3時間30分攪拌し 25
た後結晶を濾過した。結晶は少量の水で水洗し、乾燥後150メッシュより粒度大の部分と粒度小の部分に篩分けして結晶の光学純度を求めたところ次の如くであつた。

母液の pH	光学純度 (%)	
	150メッシュより粒度大の結晶	150メッシュより粒度小の結晶
pH 1.2	L-GA 97.7	D-GA 70.6
pH 3.2	L-GA 65.1	D-GA 30.6
pH 4.5	L-GA 18.7	D-GA 20.6

実施例 6

容量300 ccのジャケット付晶析器内に、D-グルタミン酸ジメチルエステルパラトレンスルホン酸塩0.0136モルを含み、pH 2、温度 65℃においてα型DL-GAに対して飽和に近いDL-グルタミン酸水溶液(H₂SO₄でpH調 45

10

整)の200gと、80メッシュより粒度の大きいα型DL-GAの100gおよび、種晶として200メッシュより粒度の小さいβ型L-GAの4gを入れて、65℃で攪拌を続けた。途中1時 5
間間隔で結晶の一部を取り出して、少量の水で洗浄後乾燥し、篩分けして結晶の光学純度を測定したところ次の如くであつた。

晶析時間 (時間)	光学純度 (%)	
	150メッシュより粒度大の結晶	150メッシュより粒度小の結晶
1	D-GA 83.5	L-GA 75.8
2	D-GA 97.7	L-GA 85.3
3	D-GA 97.8	L-GA 83.3
4	D-GA 98.6	L-GA 80.6
5	D-GA 98.2	L-GA 84.3

実施例 7

容量300 ccのジャケット付晶析器内に、L-グルタミン酸ジメチルエステルパラトレンスルホン酸塩0.0136モルを含み、pH 2、温度 65℃においてα型DL-GAに対して飽和に近いDL-グルタミン酸水溶液(H₂SO₄でpH調整)の200gと、80メッシュより粒度の大きいα型DL-GAの100g及び種晶として200メッシュより粒度の小さいβ型D-GAの4gを 30
入れて65℃で2時間30分攪拌した後、結晶の全量を濾過した。結晶を少量の水で洗浄後乾燥し、篩分けして分析したところ次の如くであつた。この値は、投入したα型DL-GAに対してそれぞれL-GAは82.8%、D-GAは90.6%の分 35
割率に相当する。尚、結晶を濾過した時点で母液中には約2.8%の光学活性L-GAが溶存していた。

結晶粒度	結晶重量 (g)	光学純度 (%)
150メッシュより大の部分	43.1g	L-GA 96.2
150メッシュより小の部分	60.1g	D-GA 82.0

(6)

特公 昭46-10844

11

特許請求の範囲

1 ラセミグルタミン酸 α 型を液底体とするラセミグルタミン酸溶液から光学活性グルタミン酸 β 型を晶析させるに際し、ラセミグルタミン酸溶液中に光学活性アミノ酸エステルを溶存させること 5

12

によつて、光学活性アミノ酸エステルと異種の対称性を有する光学活性グルタミン酸 β 型を晶析させることを特徴とする光学活性グルタミン酸 β 型の晶析方法。